



Instituto Valenciano de Microbiología

Masía El Romeral
Ctra. Bétera – San Antonio de Benagéber, Km 0,3
46117 Bétera (Valencia)
Tel. 96 169 17 02
Fax 96 169 16 37
e-mail: ivami@ivami.com
www.ivami.com
CIF B-96337217



Evaluación biológica de dispositivos médicos Prueba de citotoxicidad *in vitro* con el producto DISCO ACRÍLICO. (Norma ISO 10993-5: 2009)

Informe

Nº de registro TX/17/16.

1. **Identificación del laboratorio** Instituto Valenciano de Microbiología.
2. **Identificación del cliente** Graphenano S.L.
Dirección del cliente Calle 2ª, 1 Polígono Táctica
46980 Paterna
3. **Identificación de la muestra**
 - Nombre del producto DISCO ACRÍLICO.
 - Lote del producto No indicado.
 - Caducidad No indicado.
 - Fabricante / Proveedor Graphenano S.L.
 - Fecha de recepción del producto 14/08/2017.
 - Fecha de solicitud en condiciones de la prueba 14/08/2017.
 - Apariencia del producto Disco acrílico.
 - Conservación Temperatura ambiente
 - Tipo de muestra Sólido.
 - Compuestos activos No indicado.
 - Condiciones de uso No indicado.
 - Concentración/es solicitada/s No indicado.

4. Método de ensayo y su validación

Esta prueba ha sido realizada según las directrices de la norma UNE-EN-ISO 10993-5: 2009, realizando la lectura de los efectos mediante la prueba de captación de rojo neutro (NRU: Neutral red uptake), aplicable a la evaluación de la citotoxicidad de sustancias químicas, productos sanitarios (dispositivos médicos) o extractos obtenidos de ellos. (Procedimiento interno TOXICOL/EVADISP-0100) y TOXICOL/EVADISP-0050).

- Procedimiento por exposición a extracto del dispositivo.

5. Condiciones experimentales.

- Periodo del análisis 21/08/2017 al 25/08/2017.
- Dispositivo estéril/ esterilizado en el laboratorio, sometido a extracción.... Estéril.
- Línea celular utilizada..... Vero.
- Medio de cultivo utilizado (lote) Medio MEM 2% (V17-371)

- Suero utilizado en el medio de cultivo (lote) Suero bovino fetal (RB35937).
- Antibiótico/s utilizado/s en el medio de cultivo (lote) Antibiotic/Antimycotic (16S215309)
- Tipo de recipiente para el ensayo.... Placas 96 pocillos.
- Número de réplicas realizadas con el producto..... 3 (triplicado).
- Controles negativos utilizados..... Cultivos celulares en las mismas condiciones
- Número de réplicas de los controles negativos 4 (cuadruplicado).
- Control positivo utilizado Sodium Lauryl Sulfate (0,1 mg/mL).
- Número de réplicas de los controles positivos..... 3 (triplicado)
- Tiempo de incubación previa de las monocapas celulares..... 24 horas.
- Periodos de observación tras la exposición a las células..... 48 horas
- Medio de extracción..... Medio de cultivo celular.
- Método de extracción..... Producto de ensayo en agitación en medio de cultivo celular a + 37°C ± 1°C durante 24 horas ± 2 horas.

- Proporción producto/volumen de medio de extracción 3 cm²/mL

6. Seguimiento cualitativo de los cultivos celulares durante el periodo de ensayo

- Observación microscópica.

7. Métodos cuantitativos para la evaluación de la citotoxicidad

- Viabilidad celular respecto al control (%). La viabilidad celular se expresa como un porcentaje respecto al control negativo.
Densidad óptica (OD) del control negativo en la prueba de captación del rojo neutro (NRU) = 100% viabilidad celular.
Densidad óptica (OD) de las concentraciones ensayadas en la prueba de captación del rojo neutro (NRU) = % viabilidad celular del producto de ensayo.
- Reducción de la viabilidad celular (%) = 100 menos % viabilidad celular del producto.

Para que un producto sea considerado citotóxico tiene que provocar un porcentaje de reducción de la viabilidad celular superior al 30%.

8. Observaciones especiales relevantes durante la prueba

El ensayo se realiza con el extracto puro por tratarse de un sólido de gran dimensión.

9. Evaluación cualitativa

Tabla 1 - Gradación morfológica de la citotoxicidad

Grado	Reactividad	Características de los cultivos
0	Ninguna	Gránulos intracitoplásmicos discretos, sin lisis celular, sin reducción del crecimiento celular.

0=Ninguna; 1=Ligera; 2= Leve; 3=Moderada, 4=Intensa

10. Evaluación cuantitativa

Muestra	Media de las absorbancias (OD) ensayo con el extraído.
Extraído del producto TX/17/16	0,600
Sodium Lauryl Sulfate	0,129
Control negativo	0,812

11. Interpretación de los resultados:

Se observan efectos cualitativos de daño celular durante las observaciones microscópicas de los cultivos a las 48 horas.

El porcentaje de viabilidad celular observado mediante la lectura de los efectos evaluada con la prueba de captación de rojo neutro (NRU: Neutral red uptake) es de un 73,85%.

El porcentaje de reducción de la viabilidad celular observado mediante la lectura de los efectos evaluada con la prueba de captación de rojo neutro (NRU: Neutral red uptake) es de un 26,15%.

12. Conclusiones:

El producto DISCO ACRÍLICO, **no posee** efecto citotóxico cuando se ensaya según las condiciones citadas.

Bétera (Valencia) a 25 de agosto de 2017.

Fdo. Alma Ballester
Responsable de área
(Director de estudio)

Fdo. Noelia Ros
Técnico responsable
(Investigador)

Fdo. Encarnación Esteban
Director Técnico
(Director Garante de Calidad)

Referencia

- UNE-EN ISO 10993-5: 2009. Evaluación biológica de productos sanitarios. Parte 5: Ensayos de citotoxicidad *in vitro*. AENOR.
- UNE-EN ISO 10993-12:2012. Evaluación biológica de productos sanitarios. Parte 12: Preparación de muestras y materiales de referencia.